

361
2

PAT-NO: JP406273403A
DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 06273403 A
TITLE: AUTOMATIC MEASURING APPARATUS FOR LIQUID-CHROMATOGRAPHY
PUBN-DATE: September 30, 1994

INVENTOR-INFORMATION:

NAME **COUNTRY**

IMAI, KAZUNARI

KACHI, HIRONORI

ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME **COUNTRY**

HITACHI LTD N/A

APPL-NO: JP05059141

APPL-DATE: March 18, 1993

INT-CL (IPC): G01N030/24 , G01N030/18

US-CL-CURRENT: 73/23.39

ABSTRACT:

PURPOSE: To make it possible to perform accurate analysis by judging whether the amount of the introduced sample is sufficient or not, and automatically replenishing diluent matching the shortage when the amount is in short.

CONSTITUTION: A nozzle 8, where a specified amount of bubbles 11 is sucked, is inserted into a sample container 33. A sample 40 is sucked by the operation of a syringe 9. After the sucking, the nozzle 8 is lifted up, and a specified amount of bubbles 12 is sucked. The sample 40 is introduced into the nozzle 9 in the shape held between the bubbles 11 and 12. The nozzle 8 is moved 32 and connected to an injection port 1. Both bubbles and the sample 40 are injected. The bubbles 11 and 12 are detected by a detector 3. The detected signal is compared with are preset data and operated in a CPU 39. The syringe 9, switching valves and a pump 30 are controlled 36 based on the result. When the shortage of the sample is judged, eluate corresponding to the shortage is sucked by the pump 30 and added into the sample 40. The sample is introduced into a measuring loop 7 and moved into a separating column 31. An injection valve 2 rotates a rotor 4, switches the connecting state of a connecting port 6 and introduces the sample 40 into the loop 7. After the measurement, the sample is connected to the column 31, and the analysis is started.

COPYRIGHT: (C)1994,JPO&Japio

(19)日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-273403

(43)公開日 平成6年(1994)9月30日

(51)Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 30/24	J	8310-2 J		
30/18	E	8310-2 J		

審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 7 頁)

(21)出願番号	特願平5-59141	(71)出願人	000005108 株式会社日立製作所 東京都千代田区神田駿河台四丁目 6 番地
(22)出願日	平成 5 年(1993) 3 月18日	(72)発明者	今井 一成 茨城県勝田市大字市毛882番地 株式会社 日立製作所計測器事業部内
		(72)発明者	加地 弘典 茨城県勝田市大字市毛882番地 株式会社 日立製作所計測器事業部内
		(74)代理人	弁理士 高橋 明夫 (外 1 名)

(54)【発明の名称】 液体クロマトグラフィ自動測定装置

(57)【要約】

【構成】試料を自動的に分析ラインに導入する試料導入手段を有する液体クロマトグラフィ自動測定装置であって、前記試料導入手段に試料を吸入吐出するシリンジが設けられ、該シリンジにより吸入された試料と気泡を検出する気泡検出手段が分析ラインの試料の分離カラムの上流に設けられており、前記シリンジの動作と分析ラインに設けられた切換バルブの動作を制御する制御手段を有し該制御手段は前記気泡検出手段からの検出信号に基づき分離カラムへ導入する試料量と希釈剤量とを制御できるように構成した液体クロマトグラフィ自動測定装置。

【効果】分析試料量が不足の容器がセットされていても自動的に希釈剤で補充して分析を行い測定結果も自動補償される。また、空試料の場合はそれをメッセージとしてアウトプットするので安心して自動分析ができる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 試料を自動的に分析ラインに導入する試料導入手段を有する液体クロマトグラフィ自動測定装置であって、前記試料導入手段は試料を吸入吐出するシリンジを有し、該シリンジにより吸入された試料と気泡を検出する気泡検出手段が分析ラインの試料の分離カラムの上流に設けられており、前記シリンジの動作と分析ラインに設けられた切換バルブの動作を制御する制御手段を有し、該制御手段は前記気泡検出手段からの検出信号に基づき、分離カラムへ導入する試料量と希釈剤量を制御できるように構成したことを特徴とする液体クロマトグラフィ自動測定装置。

【請求項2】 前記分離カラムに導入する試料と希釈剤との量比から分析結果を補償し出力する補償手段を備えた請求項1に記載の液体クロマトグラフィ自動測定装置。

【請求項3】 前記気泡検出手段が計量管を備えた切換えバルブの直前に設けられている請求項1または2に記載の液体クロマトグラフィ自動測定装置。

【請求項4】 前記気泡検出手段が光学的な検出手段である請求項1、2または3に記載の液体クロマトグラフィ自動測定装置。

【請求項5】 前記シリンジにより吸入された試料を挟んでその前後に挿入された2個の気泡の通過時間を、前記気泡検出手段によって計測することにより試料量を演算計量するCPUを備え、該CPUからの指令に基づき切換えバルブの動作を自動制御して分離カラムに導入する希釈剤量を調節する手段を備えた請求項1～4のいずれかに記載の液体クロマトグラフィ自動測定装置。

【請求項6】 分離カラムに導入する溶離液の移送ポンプの前後に気泡検出器を備えた請求項1～5のいずれかに記載の液体クロマトグラフィ自動測定装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、液体試料の分析を行う液体クロマトグラフィ自動測定装置に関する。

【0002】

【従来の技術】高速液体クロマトグラフィ（HPLC）をはじめ、フローインジェクション分析法（FIA）などの分析法は、医療等の産業分野、研究開発分野に広く普及している。

【0003】近年、ますます増加する測定対象に対応するために、各種の自動装置を備えた自動分析装置が提案されている。そのなかでも、特に、分析試料を自動供給するオートサンプラを付加したものでは、多数の試料容器が載置できるオートサンプラの試料台に分析試料容器をセットすれば、自動的に試料を順次分析部に移動させて測定が行われるものが広く用いられている。該オートサンプラには、試料容器の有無を検出する検出手段を備えているものもある。

【0004】一方、分析ラインに注入される試料の検出手段としては、シリンジにより吸入された試料に少量の気泡を吸入して、その通過を光検出することにより試料の吸入を確認する方法が特開昭62-167470号公報に開示されている。また、オートサンプラのニードルに透明なチューブを接続し、試料が気泡を含むものかあるいは気体であるか光検出手段により確認する方法（特開平2-61557号公報）や、切換えバルブの上流に気泡の光検出手段を設けて気泡や気体によるカラムの分離性能の低下を防ぐ方法（特開平3-226371号公報）が提案されている。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】上記の各方法で自動分析を行う場合に、もし試料容器内の試料量が不十分なものがあった場合、その試料の測定ができない。即ち、試料の入れ忘れ等による空の試料容器をセットした場合や、試料容器内の試料量が不十分（多重測定を繰返すことによる試料の不足等）な場合、見かけ上はオートサンプラをはじめ分析装置は正常に動作するため、分析結果には誤った値が出されると言うことである。分析結果から試料導入行程でエラーがあったことが判断できる場合もあるが、必ずそのエラーが判別できるとは云えず、誤ったまゝの結果を出してしまうことになる。

【0006】こうした自動分析上のエラーを無くするためには、試料が分析部に確実に導入されたか否かを監視することが必要である。

【0007】更に、その監視結果を分析者に知らせ、誤った分析結果を利用させないことも必要がある。

【0008】また、前記エラーの発生頻度から装置の点検を要求するシステムも必要である。

【0009】最も重要なことは、試料の量が不足しているものは、その不足分に見合った溶離液等の希釈剤を自動的に補充して分析カラムに導入し、その測定結果を出す際に自動補償して正確な分析結果が得られるようにする必要がある。

【0010】本発明の目的は、上記の課題を解決した液体クロマトグラフィ自動測定装置を提供することにある。

【0011】

【課題を解決するための手段】試料が実際に導入されたか否かを常に監視するには、オートサンプラからの試料の導入部に検出器を置き試料の通過を検出できるようにし、この検出信号をCPUで演算処理し、導入された試料の量が十分か否かを判断し、不十分の場合はその不足分に見合った溶離液等の希釈剤を自動的に補充して分析できるようにすることである。本発明はこうした前記課題を解決するもので、その要旨は下記のとおりである。

【0012】（1） 試料を自動的に分析ラインに導入する試料導入手段を有する液体クロマトグラフィ自動測定装置であって、前記試料導入手段に試料を吸入吐出す

るシリンジが設けられ、該シリンジにより吸入された試料と気泡を検出する気泡検出手段が分析ラインの試料の分離カラムの上流に設けられており、前記シリンジの動作と分析ラインに設けられた切換バルブの動作を制御する制御手段を有し、該制御手段は前記気泡検出手段からの検出信号に基づき、分離カラムへ導入する試料量と希釈剤量とを制御できるよう構成したことを特徴とする液体クロマトグラフィ自動測定装置。

【0013】(2) 前記分離カラムに導入する試料と希釈剤との量比から分析結果を補償し出力する補償手段を備えた前記液体クロマトグラフィ自動測定装置。

【0014】(3) 前記気泡検出手段が計量管を備えた切換バルブの直前に設けられている前記液体クロマトグラフィ自動測定装置。

【0015】(4) 前記気泡検出手段が光学的な検出手段である前記液体クロマトグラフィ自動測定装置。

【0016】(5) 前記シリンジにより吸入された試料を挟んでその前後に挿入された2個の気泡の通過時間を、前記気泡検出手段によって計測することにより試料量を演算計量するCPUを備え、該CPUからの指令に基づき切換バルブの動作を自動制御して分離カラムに導入する希釈剤量を調節する手段を備えた前記液体クロマトグラフィ自動測定装置。

【0017】前記において、希釈剤としては溶離液を用いることができる。

【0018】上記検出手段として、光学的な検出器は試料に直接触れることがないので汚染等の心配もなく検出できるので好ましい。なお、本発明はこれに限定されず、他の手段、例えば電気的に検出する検出器でもよい。

【0019】上記光学的検出器の光学セル部は、化学的に安定で、かつ、透明な素材からなるチューブが望ましく、例えば、テトラフルオロエチレンや石英ガラス等のチューブを用いることができる。

【0020】上記検出器で検出された信号はCPUに送られ、CPU内のメモリ装置に予め入力されたデータと比較演算処理され、シリンジと分析ライン上の必要な切換バルブの動作を制御するシステムコントローラにフィードバックさせて、上記シリンジと必要な切換バルブを駆動することにより、量不足の試料には溶離液等の希釈剤を補充して、自動分析を行うようにしたものである。

【0021】また、本発明においては、試料量の不足等による誤った分析結果を利用させないようにすると共に、再測定の要求をコントローラの操作面上または出力結果中に表示して分析者に知らせるようにする。これには、前記の検出結果をCPUで演算処理した結果をそれぞれに送り、表示することで達成できる。

【0022】また、上記の異常の発生頻度が所定の回数を超えた場合に、装置の点検を要請するには、予めCP

Uのメモリ装置に設定した異常発生の許容値と実際の異常発生頻度とを比較し、設定されている許容値を超えたときに、前記と同様にメッセージを表示することで達成できる。

【0023】次に、本発明の液体クロマトグラフィ自動測定装置のオートサンプラ（試料自動導入装置）の動作を説明する。

【0024】液体クロマトグラフィ装置の基本構成は試料導入装置、溶離液移送ポンプ、分離カラムおよび検出器で構成される。自動測定装置の場合、試料導入装置にはオートサンプラが用いられる。オートサンプラは複数の試料容器が載置できるテーブルを備えており、その所定の位置にされた載置した試料容器に、シリンジに設けたノズルを挿入して所定量の試料を吸入し、これを自動切換えができる計量管を備えた切換バルブ（インジェクションバルブ）内に注入する。このとき、ノズルに吸入された試料の前後には気泡（空気）が挿入されるよう吸入する。インジェクションバルブにはこのまゝ、試料と気泡が送られる。従って、インジェクションバルブの直前に気泡検出器を設けておけば、ここを気泡、試料液、気泡の順に通過するので、これから試料導入が正常か否か容易に判断できる。

【0025】検出器には、透明チューブからなる検出部を設け、その部分を通過する気泡と試料液との透過光強度の差を計測できる光検出素子を備えておけば試料液を容易に検出することができる。該試料液の定量も最初の気泡が通過して次の気泡が来るまでの時間を計測すれば、2個の気泡間の通過時間と検出部の流路の断面積および流速とから知ることができる。流速は、シリンジの吐出速度から求めることができる。

【0026】なお、試料容器が空の場合は気泡しか検出されないため容易に判別でき、逆に試料液中に気泡が混在する場合には、第三の気泡として検出されるので、これもまた容易に判別することができる。

【0027】こうした識別には学習能力のあるニューロ素子の使用、または、パターン認識による識別、あるいは注入直後から一定時間内の変化を数値化して識別するなど各種の識別法が利用できる。

【0028】試料導入部以外の分析ラインにおいても気泡検出は有用な情報を与える。例えば、移送ポンプに導入される溶離液中の気泡混入状態を見ることにより、ポンプの動作状況が診断される。また、分離カラムの上流と下流とに検出器を設ければ、分離カラムの異常等の診断が可能である。これらによっても分析装置の異常が診断できるので、より分析装置の信頼性を向上することができる。

【0029】なお、前記気泡の検出器としては、米国特許第5,083,862号に開示されているものや、市販の液検出センサTK-010（東横化学社製）、液体用基準流量計BF-1000型（エステック社製）等が利

用できる。

【0030】

【作用】本発明の液体クロマトグラフィ自動測定装置が、試料不足の場合でも測定可能なのは、気泡検出手段により試料量を計測し、それに基づき溶離液等の希釈剤を導入、希釈して、分離カラムへ移送するようにしたことにある。これらはCPUにより自動制御され、測定結果も試料の希釈状態に基づき自動補償してアウトプットすることにより高信頼性の測定結果が得られる。

【0031】

【実施例】本発明の液体クロマトグラフィ自動測定装置の一例を図1により説明する。

【0032】試料採取用のノズル8に所定量の気泡（空気）11を吸入してからオートサンプラ13上の試料容器33に挿入し、シリンジ9で試料を吸入する。シリンジ9には、バルブ35が付属し、制御部36により、バルブ35の開閉と連動させてシリンジ9の吸入、吐出動作、洗浄操作を行なうことができる。

【0033】試料の吸入後に試料液面からノズルを引き上げ所定量の気泡12を吸入する。その結果、吸入された試料40は気泡11と気泡12で挟まれた形でノズル8内に導入される。ノズル8は移動装置32によって注入ポート1上に移動し接続されて、前記気泡と試料とが注入される。

【0034】上記気泡11、12は、インジェクションバルブ2の上流に設けた気泡の検出器3で検出される。気泡検出部には透明なテトラフルオレチレン製のチューブ20が接続されており、光源21からの照射光は上記チューブ20を透過して、フォトセンサ22でその変化を検出し、その検出信号は増幅器38を介してCPU39に送られる。なお、光源21には発光ダイオードLEDを、フォトセンサ22には半導体光検出器を用いた。また、フォトセンサ22には絞リ37が設けてある。

【0035】上記フォトセンサ22は、フローセルであるテトラフルオレチレン製のチューブ20（内径0.5mm）を透過してくる光を検出する。液体にはその吸光度に相当する信号が得られ、気泡は透過光が散乱されるので、その両者の差違によって試料検出ができるよう調整されている。なお、テトラフルオレチレンは吸収が大きいので、光源21の検出光の波長としては300～700nm、好ましくは、350～550nmがよい。

【0036】上記フォトセンサ22による検出信号は、CPU39内のメモリ装置に予め設定、格納されたデータと比較演算処理され、それに基づく制御信号が制御部36に送られて、試料移送用のシリンジ9、各切換えバルブおよびポンプ30の動作を制御する。これによって、試料が分析に必要な量より不足していると判断された場合は、試料の不足分に応じ溶離液29がポンプ30によって吸入され、不足分に相当する量の溶離液を試料に加えて計量ループ7内に導入し、次いで、分離カラム

31へ移送される。

【0037】前記インジェクションバルブ2は、制御部36によって電動切換え弁とロータ4を回転し、ステータ5に設けられた接続口6の接続状態を切換えることにより、注入された試料を計量ループ7に導入、計量後、分離カラム31に接続し、分析が開始する。

【0038】分析はこれまでの公知の方法と同様にして行う。即ち、分離カラムで分離された各成分は検出器50で順次検出され、システムコントローラ41で処理されて、コントロール画面43あるいはプリンタ（またはプリンタ/プロッタ）51等によりアウトプットされる。なお、図1ではシステムコントローラ41を別個に設けているが、CPU39が兼ねるようにしてもよい。

【0039】また、上記において、試料濃度は導入した試料量または希釈補充した溶離液量の計測結果に基づきCPUで演算処理し、測定結果（クロマトグラムのピーク高さ、ピーク面積）を補償して、アウトプットする。

【0040】図2は各試料状態による光検出器3の信号の一例（試料の過不足によるパターンの違い）を示したものである。（a）は試料量が十分で正常に注入された場合を示し、2個の気泡とその間の試料の通過が検出された場合、（b）は試料が不足している場合で気泡の部分が長くなった場合、（c）は試料容器が空の場合で気泡が1個として検出された場合、（d）は試料の代わりに水を注入した場合をそれぞれ示す。

【0041】また、図3は、試料液の途中に気泡が混入した場合の光検出信号の一例で、挿入気泡の大きさを変えた試料を作成して測定した（気泡が観測される位置を矢印で示す）ものである。

【0042】光検出器3に気泡等が到達するまでの時間は、接続されたチューブの太さと長さが分かれば、シリンジの動作速度で規定できるので予測できる。従って、この時間内での信号の変化に着目していればよい。制御部36より注入開始の信号をCPU39で受け、予め設定された待ち時間を経過後、測定を開始するようCPUに設定した。

【0043】上記信号はCPU39でパターン認識し、コード化してシステムコントローラ41に送り、状況に対応したメッセージをコントロール画面43等に表示することができる。例えば、図4～6に示すように、異常発生をメッセージ42（試料不足エラー）や記号表示44で行ない、異常発生頻度を計測、表示45する。異常発生頻度がCPUのメモリに予め設定した回数に達したときは、装置のチェックを要求する表示46をコントロール画面43に表示することもできる。また、他の分析結果と同時にプリンタ（またはプリンタ/プロッタ）51でアウトプットすることもできる。

【0044】

【発明の効果】本発明によれば、分析試料の量が不十分な試料容器がセットされていても自動的に希釈剤で希釈

7

補充して分析を行うことができる。また、分析不可能な試料量（例えば空試料）の場合は、それをメッセージとしてコントロール画面に表示するか、または他の分析結果と同時にアウトプットするようにしたことにより、誤った結果の利用がなくなり、安心して自動分析を行なうことができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の液体クロマトグラフィ自動測定システムの一例を示す構成図である。

【図2】検出信号の一例（試料の過不足によるパターン10のの違い）を示すグラフである。

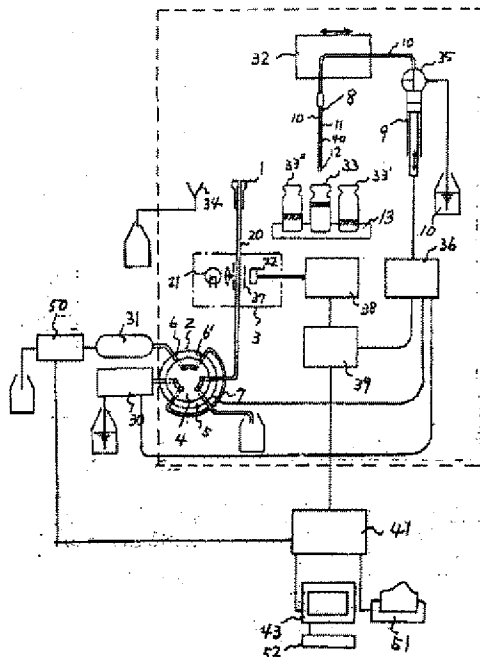
【図3】検出信号一例（気泡混入の場合）を示すグラフである。

【図4】表示画面の一例を示す模式図である。

【図5】表示画面の一例を示す模式図である。

【図1】

図 1



2…インジェクションバルブ 3…検出器 8…シリンジ 11、12…気泡 13…オートサンプラ 20…溶離液 30…ポンプ 31…分離カラム 32…移動装置 33…試料容器 36…制御部 38…増幅器 39…CPU 40…試料 41…システムコントローラ 43…コントロール画面 50…検出器

8

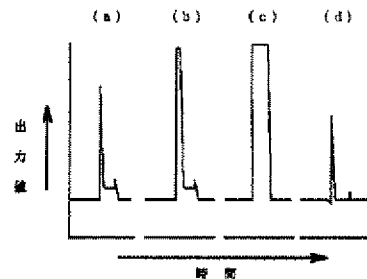
【図6】表示画面の一例を示す模式図である。

【符号の説明】

1…注入ポート、2…インジェクションバルブ、3…検出器、4…ロータ、5…ステータ、6…接続口、7…計量ループ、8…ノズル、9…シリンジ、10…洗浄液、11、12…気泡、13…オートサンプラ、20…テトラフルオレチレン製チューブ、21…光源、22…フォトセンサ、29…溶離液、30…ポンプ、31…分離カラム、32…移動装置、33…試料容器、34…洗浄ポート、35…バルブ、36…制御部、37…絞リ、38…増幅器、39…CPU、40…試料、41…システムコントローラ、43…コントロール画面、47…クロマトグラム、48…分析結果表、49…測定試料リスト、50…検出器、51…プリンタ、52…キーボード。

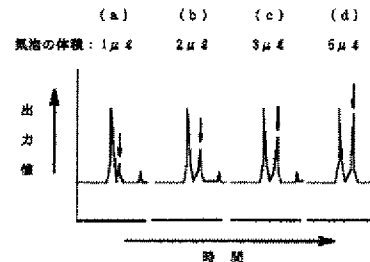
【図2】

図 2



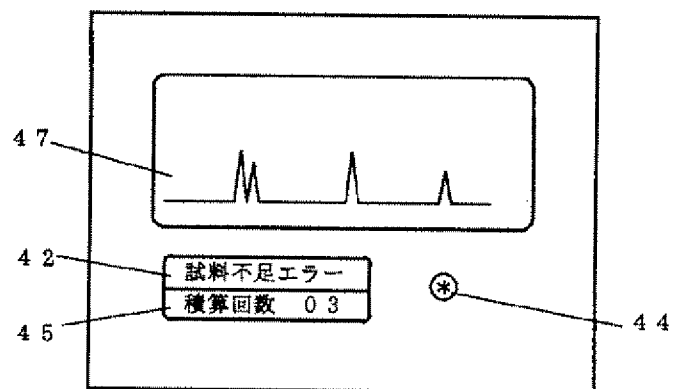
【図3】

図 3



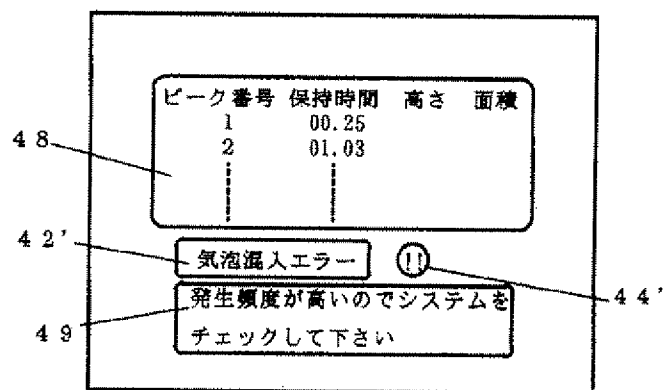
【図4】

図 4



【図5】

図 5



(7)

特開平6-273403

【図6】

図 6

49	測定番号 試料番号 ファイル番号			試料量
	1	5	105	OK
	2	5	106	*
	3	6	107	OK
	4	8	108	!!
	⋮	⋮	⋮	

44''